

***Corso di aggiornamento annuale per operatori
dei Registri Tumori***

11 settembre 2013

I MARKER TUMORALI NELLE LEUCEMIE, LINFOMI E MIELOMI:

INFORMAZIONI UTILI PER LA REGISTRAZIONE

Adriano Giacomini, Stefano Luminari



Markers umorali

Malattie mieloproliferative, sindromi mielodisplastiche, leucemie

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO CON FORMULA LEUCOCITARIA
STRISCIO PERIFERICO
MIELOGRAMMA

Funzione di conteggio in particolare di blasti

Malattie immunoproliferative

QPE / IMMUNOELETTROFORESI

DOSAGGI IgG IgA IgM

DOSAGGIO PROTEINURIA DI BENCE-JONES

DOSAGGI E RAPPORTI CATENE κ/λ IN SIERO E URINE

Markers tissutali

STRISCIO SU SANGUE PERIFERICO

Osservazione

Colorazione e citochimica

IMMUNOFENOTIPO IN CITOFLUORIMETRIA

IMMUNOISTOCHEMICA IN BIOPSIA

VALORE DIAGNOSTICO

Spiega la presenza di taluni markers solo in centri di 3° livello
(2**, 3***)

PERFORMANCE

Spiega perché alcuni markers sono sempre presenti nella fase
diagnostica anche non in centri di 3° livello (P***)

CITOGENETICA

BIOLOGIA MOLECOLARE

LINFOMI NON HODGKIN

GOLD STANDARD

Esame morfologico e immunoistochimica su biopsia linfonodale o di organo.

Linfomi leucemizzati

Linfomi con adenopatie non biopsiabili

- **Esame morfologico dello striscio periferico**
- **Esame morfologico di aspirato midollare**
- **Immunofenotipo in citofluorimetria**
- **Esame morfologico e immunoistochimica su biopsia midollare**

LINFOMI NON HODGKIN

LNH e leucemie linfatiche – B

CD19, CD20, CD79a marcatori di linea B

CD5+ linfociti B naive: precursori linfoidi B con riarrangiamento delle immunoglobuline di superficie > (linfoma mantellare, aggressivo). E' associata t(11;14) e c'è anche **ciclinaD+**

CD10+ e BCL6+ Centroblasti – linfociti attivati dall'incontro con l'antigene (linfomi B aggressivi)

BCL2+ e BCL6- Centrociti dopo interazione tra centroblasti e linfociti T

CD10+ linfociti B del centro germinativo . Se è associata t(14;18) c'è anche **BCL2+** (linfomi follicolari) . Presente anche nella **LLA common**

CD5- CD10- linfociti B memory: linfociti B maturi usciti dal centro germinativo che ricircolano nel sangue periferico e vanno nelle zone marginali dei linfonodi, della milza e dei tessuti MALT (linfomi della zona marginale linfonodale, splenica e MALT)

CD5+, CD23+, CD10-, CD43+ **linfoma linfocitico**. Immunofenotipo uguale alla LLC da cui si distingue per la presentazione esclusivamente nodale

LINFOMI NON HODGKIN

LNH e leucemie linfatiche – T/NK

CD3 marcatore di linea T

CD56 marcatore di linea NK

CD7+ e CD2+ stadi più immaturi di **LLA (T-I e T-II)**

CD5+ con CD1a+ definiscono la **LLA T-III**, con **CD4+** e **CD8+**.

CD3+ con CD4 o CD8 stadio più maturo della **LLA-T (T-IV) CD1a-**.

CD4+ e CD57+ Linfociti T-helper (maggior parte dei **linfomi T periferici NAS**)

Se **BCL6+** e **CD10+** sono T-helper follicolari oppure è **linfoma T angioimmunoblastico**

CD25+ linfociti T regolatori (**leucemia/linfoma a cellule T dell'adulto**, associata all'infezione da virus HTLV-1)

CD4- CD8- Linfociti T maturi (**linfomi T epatosplenici**, **linfomi a cellule T $\gamma\delta$**)

CD3- CD16+ CD56+ Linfociti NK maturi (**leucemia aggressiva a cellule NK**)

CD30+ e CD3 debole **linfoma anaplastico a grandi cellule** .

Se c'è t(2;5) e varianti è **ALK+**

LINFOMI NON HODGKIN

LNH Casi particolari

Linfoma B diffuso a grandi cellule (DLBCL) classe eterogenea

CD19, CD20, CD79a marcatori di linea B

BCL2+ se presente t(14;18), elemento prognostico che suggerisce una possibile evoluzione da una forma indolente di tipo follicolare.

Linfoma di Burkitt

CD19, CD20, CD79a marcatori di linea B

pattern istologico tipico con Ki-67 pari al 100%

Linfoma linfoblastico dai precursori linfoidi B (10% circa) o T (90% circa), che interessa Immunofenotipo identico a LLA-B o T.

Se ne differenzia per l'interessamento esclusivamente nodale, spesso come massa mediastinica.

Se c'è anche interessamento midollare la malattia è definita

linfoma linfoblastico **blasti midollari <25%**

leucemia linfoblastica **blasti midollari ≥25%**

LEUCEMIA LINFATICA O LINFOMA ?

LEUCEMIA AB INIZIO

LEUCEMIZZAZIONE DI LINFOMA

- **BIOPSIA MIDOLLARE POSITIVA** Non significativa, serve anche per stadiazione e follow-up di linfoma, la prima diagnosi potrebbe essere di molto antecedente alla biopsia
- **IMMUNOFENOTIPO UGUALE** Non significativo

- **escludere storie precedenti di linfoma (recidive di linfomi a basso grado)**
- **escludere storie precedenti di leucemia (LLC con diagnosi ambulatoriale e non trattate)**
- **raccogliere dati esaurienti sul profilo ematologico (cellularità nel sangue, ombre di Gumprecht, cellularità neoplastica midollare, etc.) e clinico**
- **raccogliere conclusione del clinico**

Linfoma linfocitico vs LLC in BOM+

- **se esclusivamente nodale o con coinvolgimento diffuso di linfonodi → LINFOMA**
- **se coinvolgimento nodale assente o scarso → LLC**

Linfoma linfoblastico vs LLA in BOM+

linfoma linfoblastico	blasti midollari <25%
leucemia linfoblastica	blasti midollari ≥25%

DIAGNOSI “POVERA” DI LLC

DIAGNOSI CLINICA SENZA APPROFONDIMENTI

- Pazienti anziani e/o con comorbidità grave
- Scarsa rilevanza clinica (assenza di segni e sintomi)

- escludere storie precedenti di linfoma o LLC
- raccogliere conclusione del clinico (specialista)
- verificare i dati di profilo ematologico e clinico (linfadenomegalie)

La diagnosi viene posta di solito con emocromocitometrico+striscio e con citofluorimetria su sangue periferico

Ma la citofluorimetria è spesso indisponibile tra i flussi correnti

Come orientarsi? SE DISPONIBILI DATI DI LABORATORIO

OMBRE DI GUMPRECHT ALLO STRISCIO Spesso riportato anche nell'esame emocromocitometrico, come elemento di verifica della correttezza della linfocitosi

LINFOCITOSI ASSOLUTA PERSISTENTE >5.000/mmc per oltre 3 mesi.

coincide con la definizione di Stadio 0 di Rai o A di Binet

NB Diagnosi cliniche non specialistiche con linfocitosi < 5000/mmc sono riconducibili

- a errore diagnostico (clonalità non ricercata)
- a MBL (Linfocitosi B monoclonale CD5+/CD23+)

LINFOMI DI HODGKIN

GOLD STANDARD

Esame morfologico e immunoistochimica su biopsia linfonodale

L'immunoistochimica consente di differenziare le forme

CD30+ intensa nel LH classico, debole nel LH a prevalenza linfocitaria

CD15+ conferma la presenza delle cellule di Reed Sternberg

FASCIN per diagnosi differenziale tra LH classico e a prevalenza linfocitaria

NB CD30+ si ritrova anche in patologie reattive del linfonodo

MALATTIE IMMUNOPROLIFERATIVE

MGUS, Plasmocitoma, Mieloma, Waldestrom e Linfoma Linfoplasmocitoide, etc

GOLD STANDARD

1) Esame morfologico e immunoistochimica su agoaspirato o biopsia MIDOLLARE

CD138+ marcatore di plasmacellule

CD56+ può essere iperespresso nel mieloma, mai nella MGUS

CD38+ nel Linfoma linfoplasmocitoide

2) Esami di laboratorio diagnostici

DOSAGGI IgG IgA IgM

IMMUNOFISSAZIONE SU SIERO O URINE

DOSAGGI CATENE κ/λ IN SIERO E URINE – TEST FREE LIGHT CHAIN

Servono a determinare il tipo di proteina prodotta dal tumore.

Le immunoglobuline sono costituite da catene pesanti e catene leggere [κ] o [λ].

Si hanno quindi

-**diversi tipi di mieloma multiplo** in base all'Ig prodotta (IgG κ o λ , IgA κ o λ , o, più raramente, IgD, IgM o IgE)

- **mieloma micromolecolare**, se sono prodotte solo catene leggere

MALATTIE IMMUNOPROLIFERATIVE
EQUIVALENZA DIAGNOSTICA DEI DOSAGGI DI Ig

Variabile	MGUS	Mieloma <i>Smouldering</i>	Mieloma Multiplo	Macroglobulin. di Waldenström	Amiloidosi Primaria
Plasmacellule midollari (%)	<10 <u>e</u>	≥10 <u>e/o</u>	≥10 <u>e/o</u>	>10 (cellule linfoplasmocitoidi) <u>e</u>	<10 <u>e</u>
Proteina monoclonale circolante (g/L)	<30	≥30	≥30	>30	<30
Manifestazioni cliniche	Assenti	Assenti	Presenti*	Presenti*	Presenti*
* Segni clinici presenti secondo la patologia di base					

**Differenziazione della MGUS rispetto al mieloma multiplo ed altre condizioni
(Bladè, NEJM 2006)**

**NB Le soglie indicate da ENCR per l'attribuzione di morfologia specifica
NON SONO PIU' APPLICABILI**

NEOPLASIE MIELOIDI - WHO 1997

Malattie mieloproliferative

Leucemia Mieloide Cronica, cromosoma Philadelphia positiva [t(9;22)(q34;q11), bcr/abl]
Leucemia cronica neutrofilica
Leucemia cronica eosinofila / sindrome ipereosinofila
Mielofibrosi Idiopatica cronica
Policitemia Vera
Trombocitemia Essenziale
Malattia mieloproliferativa non classificata

Malattie mielodisplastiche / mieloproliferative

Leucemia MieloMonocitica Cronica
Leucemia mieloide cronica atipica
Leucemia mielomonocitica giovanile

Sindromi mielodisplastiche

Anemia Refrattaria
con sideroblasti ad anello
senza sideroblasti ad anello
Citopenia refrattaria (sindrome mielodisplastica)
con displasia multilineare
Anemia Refrattaria (sindrome mielodisplastica)
con Eccesso di Blasti
Sindrome 5q-
Sindrome Mielodisplastica non classificata

Leucemie Acute Mieloidi

LAM con traslocazioni citogenetiche ricorrenti:

LAM con t(8;21)(q22;q22), aml1(cbfa)/eto
LA Promielocitica [LAM con t(15;17)(q22;q21) e var, pml/rara]
LAM con eos. mid. [inv(16)(p13;q22) o t(16;16), cbfb/myh11]
LAM con anomalie 11q23 (mll)

LAM con displasia multilineare

con precedente sindrome mielodisplastica
senza precedente sindrome mielodisplastica

LAM e sindromi mielodisplastiche correlate a terapie

correlate ad agenti alchilanti
correlate a epipodofillotossine
altri tipi

LAM non altrimenti classificate

LAM scarsamente differenziata, M0
LAM senza maturazione, M1
LAM con maturazione, M2
LA promielocitica, M3
LA mielomonocitica, M4
LA monocitica, M5
LA eritroide, M6
LA megacariocitica, M7
LA basofilica
Panmielosi acuta con mielofibrosi

Leucemie acute bifenotipiche

NEOPLASIE EMATOLOGICHE CON DIAGNOSI CITOGENETICA

ICD-O-3 REVISIONE 2011

980 LEUCEMIE, NAS (42.1)	995-996 DISORDINI MIELOPROLIFERATIVI CRONICI (42.1)
9806/3 Leucemia acuta a fenotipo misto con t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1	9965/3 Neoplasie mieloidi e linfoidi con riarrangiamento PDGFRA
9807/3 Leucemia acuta a fenotipo misto con t(v;11q23); MLL riarrangiato (<i>Myeloid/Lymphoid Leukemia o ALL1 o HRX</i>)	9966/3 Neoplasie mieloidi con riarrangiamento PDGFRB
984-993 LEUCEMIE MIELOIDI (42.1)	9967/3 Neoplasie mieloidi e linfoidi con anomalità FGFR1
9861/3 Leucemia mieloide acuta con mutazione NPM1	998-999 SINDROMI MIELODISPLASTICHE (C42.1)
9861/3 Leucemia mieloide acuta con mutazione CEBPA	9986/3 Sindr. mielodisplastica con sindrome da delezione 5q (5q-)
9865/3 Leucemia mieloide acuta con t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214	9986/3 Sindrome mielodisplastica con del (5q) isolata
9869/3 Leucemia mieloide acuta con inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1	
9896/3 Leucemia mieloide acuta, t(8;21)(q22;q22)	982-983 LEUCEMIE LINFOIDI (42.1)
9896/3 Leucemia mieloide acuta, AML1(CB-alfa)/ETO	9812/3 Leucemia linfoblastica/linfoma a cellule B con t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1
9896/3 FAB M2, t(8;21)(q22;q22)	9814/3 Leucemia linfoblastica/linfoma a cellule B con t(12;21)(p13;q22); TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)
9896/3 FAB M2, AML1(CB-alfa)/ETO	9815/3 Leucemia linfoblastica/linfoma a cellule B con iperplodia
9896/3 Leucemia mieloide acuta con t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1	9816/3 Leucemia linfoblastica/linfoma a cellule B con ipoploidia (ipoploidia ALL)
9897/3 Leucemia mieloide acuta, con anomalita' 11q23	9817/3 Leucemia linfoblastica/linfoma a cellule B con t(5;14)(q31;q32); IL3-IGH
9897/3 Leucemia mieloide acuta con t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL	9818/3 Leucemia linfoblastica/linfoma a cellule B con t(1;19)(q23;p13.3); E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)
9898/1 Mielopoiesi anormale transitoria	
9898/3 Leucemia mieloide associata a sindrome di Down	
9911/3 Leucemia mieloide acuta (megacarioblastica) con t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1	

IN MARRONE LE NUOVE ENTITA'

RUOLO SEMPRE PIU' IMPORTANTE DEI MARKER CITOGENETICI E MOLECOLARI

MALATTIE MIELOPROLIFERATIVE (MPD)

EMATOPOIESI INEFFICACE+CELLULARITA' ELEVATA NEL SANGUE

STANDARD DIAGNOSTICI PER TE, PV, MF

Esame emocromocitometrico+formula+striscio sangue periferico

Esame morfologico e immunoistochimica su agoaspirato o biopsia MIDOLLARE
CD 34+ se i blasti sono elevati si differenzia mielofibrosi da PV o TE.
Comunque <20%

Biologia molecolare con PCR

JAK2 , in particolare JAK2 V617F

- 96% dei pazienti con PV
- 55% dei casi di TE
- 65% dei casi di mielofibrosi idiopatica
- meno frequente il riscontro in sindromi mielodisplastiche e LAM.

RUOLO DIAGNOSTICO DI CONTA CELLULARE E MOLECOLARE IN TROMBOCITEMIA ESSENZIALE E POLICITEMIA VERA

CRITERI DIAGNOSTICI NELLA ET⁵⁹

Criteria maggiori:

- ❖ trombocitosi > 600.000/mm³ per almeno 2 mesi ←
- ❖ presenza della mutazione JAK2 V617F ←

Criteria minori:

- ❖ assenza di cause di trombocitosi reattiva (normali indici infiammatori)
- ❖ nessuna evidenza di carenza marziale (ferro)
- ❖ nessuna evidenza di PV
- ❖ nessuna evidenza di LMC
- ❖ nessuna evidenza di mielofibrosi
- ❖ nessuna evidenza di mielodisplasia

Si pone diagnosi di ET se sono soddisfatti:

- ❖ due criteri maggiori + gli ultimi quattro minori (JAK pos.)
- ❖ primo criterio maggiore + tutti i sei minori (JAK neg.)

CRITERI DIAGNOSTICI DELLA PV

Criteria maggiori:

- ❖ aumento massa GR >25% rispetto al valore medio o ematocrito >60% (uomini) e >56% (donne) ←
- ❖ assenza di cause di eritrocitosi secondaria (normale saturazione O₂ arterioso, non incremento di EPO)
- ❖ splenomegalia palpabile
- ❖ presenza mutazione JAK2 V617F o di altre anomalie citogenetiche (esclusa bcr/abl) nelle cellule emopoietiche ←

Criteria minori:

- ❖ trombocitosi >400 x 10⁹/L ←
- ❖ neutrofilia (neutrofili >10x10⁹/L; >12,5x10⁹/L nei fumatori) ←
- ❖ splenomegalia radiologicamente documentata ←
- ❖ colonie eritroidi endogene o bassi livelli di EPO

Diagnosi di PV se sono soddisfatti:

- ❖ i primi due criteri maggiori + un altro criterio maggiore
- ❖ i primi due criteri maggiori + due criteri minori

* American Society of Hematology 2005⁵⁶

MALATTIE MIELOPROLIFERATIVE (MPD)

EMATOPOIESI INEFFICACE+CELLULARITA' ELEVATA NEL SANGUE

STANDARD DIAGNOSTICI PER LMC

Esame emocromocitometrico+formula+striscio sangue periferico
Numero leucociti/mmc e Presenza di precursori mieloidi immaturi

Esame morfologico e immunofenotipico o immunoistochimico su agoaspirato o biopsia MIDOLLARE

Blasti < 20%

Citogenetica con FISH

t(9;22) Cromosoma Philadelphia+

Biologia molecolare con PCR

BCR/ABL trascritto dovuto a t(9;22)

- **95% dei casi di LMC**
- **50% di pazienti con LLA, specie nell'adulto**

DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLE MPD

<i>Caratteri</i>	LMC	Policitemia Vera	Mielofibrosi Idiopatica	Trombocit. Essenziale	Reaz. leucemoide
Leucocitosi	+++	+	+	+	+
Splenomegalia	++	+	+++	+	-
Eosinofili nel sangue	++	+	+	+	-
Basofili nel sangue perif	++	+	+	+	-
Piastrinosi	++	+	+	+++	-
Fibrosi midollare	++	+	+++	+	-
Fosfatasi alcalina leucoc.	rid./assente	normale	aum./norm	aum./norm	normale
Cromosoma Ph¹	+	-	-	-	-

DIAGNOSI “POVERA” DI MPD

DIAGNOSI CLINICA SENZA APPROFONDIMENTI

- Pazienti anziani e/o con comorbidità grave
- escludere storie precedenti di MDS
- raccogliere conclusione del clinico (specialista)
- verificare i dati di profilo ematologico e clinico

La diagnosi viene posta di solito con emocromocitometrico+striscio e con citofluorimetria su sangue periferico. Ma la citofluorimetria è spesso indisponibile tra i flussi correnti

Come orientarsi? SE DISPONIBILI DATI DI LABORATORIO

Leucocitosi molto alta con forme immature
con/senza trombocitosi >450.000/mmc

→ LMC sospetta

Trombocitosi > 600.000/mmc per oltre 2 mesi senza segni di altre MPD → TE sospetta

Ematocrito >60% (56% nelle donne)

Trombocitosi >400.000/mmc

→ PV sospetta

Neutrofilia >10.000/mmc (12.500 nei fumatori)

Occorre confrontarsi con ematologo. Altrimenti sono casi NSE

CMML LEUCEMIA MIELOMONOCITICA CRONICA

- Persistente monocitosi $> 1 \times 10^9 /L$ **CONTA CELLULARE**
- No cromosoma Ph₁ o BCR/ABL **CITOGENETICA/MOLECOLARE**
- Meno di 20% blasti nel midollo o periferico **CONTA CELLULARE+IIC
(CD34+ CD68+)**
- Displasia in una o più linee mieloidi **ESAME MORFOLOGICO**
- In assenza di displasia
 - anomalie citogenetiche clonali nel midollo
 - persistenza della monocitosi per oltre 3 mesi con esclusione delle monocitosi secondarie

	CCML-1	CCML-2	
Blasti periferici	< 5%	5-19%	
Blasti midollari	10%	10-19%	Se > 20% è sempre una AML
Corpi di Auer	MAI	NO / SI	Se presenti, è sempre una CCML-2

SINDROMI MIELODISPLASTICHE (MDS)

ALTERAZIONI MORFOLOGICHE (DISMIELOPOIESI)+ EMATOPOIESI INEFFICACE

STANDARD DIAGNOSTICI PER LMC

Esame emocromocitometrico+formula+striscio sangue periferico
Numero elementi/mmc

ESAMI ATTI AD ESCLUDERE ALTRE CAUSE DI ANEMIA

Esame morfologico e immuno-fenotipico e istochimico su agoaspirato o biopsia
MIDOLLARE

Blasti CD34 < 20%

Citogenetica con FISH

del(5q) e altre anomalie, più frequenti in MDS post terapia (t-MDS)

I pazienti con le anomalie citogenetiche:

t(8;21) , inv (16) , t (16;16) , t (15;17)

sono classificati come AML qualunque sia il numero dei blasti

ELEMENTI DESCRITTIVI MORFOLOGICI

SOGLIE DI CELLULE DISPLASTICHE

10% di elementi di linea cellulare nel MO per le SMD

50% degli elementi per linea cellulare nelle LMA con alterazioni displastiche correlate

ELEMENTI DESCRITTIVI DELLA DISERITROPOIESI

multinuclearità

nucleo polilobulato

alterazioni megaloblastiche

vacuolizzazioni citoplasmatiche

sideroblasti ad anello

abnorme PAS positività degli eritroblasti

...

ELEMENTI DESCRITTIVI DELLA MIELODISPLASIA

variabilità delle dimensioni cellulari

ipolobularità o ipersegmentazione nucleare

granulazioni abnormi o ipogranularità/assenza di granulazioni

presenza di corpi di Auer

ELEMENTI DESCRITTIVI DELLA DISPLASIA DEI MEGACARIOCITI

micro-megacariocita

ipolobularità nucleare

multinuclearità

CLASSIFICAZIONE WHO DELLE MDS

- **Anemia Refrattaria (RA)**
- **Anemia Refrattaria con sideroblasti ad anello (RARS)**

- **Citopenia Refrattaria con Displasia Multilineare (RCMD)**
- **Citopenia Refrattaria con Displasia Multilineare e Sideroblasti ad anello (RCMD-RS)**

- **Anemia Refrattaria con eccesso di Blasti - 1 (RAEB-1)**
- **Anemia Refrattaria con eccesso di Blasti - 2 (RAEB-2)**

- **Sindrome Mielodisplastica non classificabile (MDS-U)**
- **Sindrome Mielodisplastica con del (5q)**

DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLE MDS E RUOLO DELLE VARIE COMPONENTI DI DIAGNOSI STANDARD

	RA	RARS	RCMD	RCMD-RS	RAEB-1	RAEB-2	MDS-U	MDS - 5q-
Sangue periferico	Anemia		Bi- o Pancitopenia		Citopenie		Citopenie	Anemia
	Assenza di blasti		Assenza o rari blasti		< 5% di blasti	5-19% di blasti	Assenza o rari blasti	< 5% di blasti
			Assenza di corpi di Auer		Assenza di corpi di Auer	Corpi di Auer ±	Assenza di corpi di Auer	
			< 10 ⁹ /l. monociti		< 10 ⁹ /l. monociti			Piastrine normali o aumentate
Aspirato midollare	Displasia eritroide		Displasia > 10% in 2 o più linee mieloidi		Displasia in una o + linee mieloidi		Displasia unilineare mieloide o megacariocitaria	Normali o aumentati (micromegacariocitari)
	< 5% blasti		< 5% blasti		5-9% di blasti	5-19% di blasti	< 5% blasti	
	< 15% sideroblasti ad anello	≥ 15% sideroblasti ad anello	< 15% sideroblasti ad anello	≥ 15% sideroblasti ad anello				
			Assenza di corpi di Auer		Assenza di corpi di Auer	Corpi di Auer ±	Assenza di corpi di Auer	
								Delezione isolata 5q

DIAGNOSI “POVERA” DI MDS

DIAGNOSI CLINICA SENZA APPROFONDIMENTI

- Pazienti anziani e/o con comorbidità grave
- escludere storie precedenti di MDS
- raccogliere conclusione del clinico (specialista)
- verificare i dati di profilo ematologico e clinico

La diagnosi viene posta di solito con emocromocitometrico+striscio e con citofluorimetria su sangue periferico. Ma la citofluorimetria è spesso indisponibile tra i flussi correnti

Come orientarsi? SE DISPONIBILI DATI DI LABORATORIO

NB Diagnosi cliniche non specialistiche sono spesso riconducibili a errore diagnostico

DIAGNOSI “POVERA” DI MDS

DIAGNOSI CLINICA SENZA APPROFONDIMENTI

- Pazienti anziani e/o con comorbidità grave

-Emocromocitometrico con formula: se non c'è riduzione di eritrociti, leucociti o piastrine in circolo e non è stata effettuata terapia di supporto trasfusionale è improbabile l'eritropoiesi inefficace

◆ anemia (emoglobina < 12 g/dl) con reticolociti non aumentati

◆ neutropenia (< 1.800/μL)

◆ piastrinopenia (<100.000/μL)

Dosaggi di Ferro, Ferritina, Vitamina B12, folati: non devono essere inferiori alla norma per escludere uno stato carenziale. Spesso si rilevano valori elevati.

-Volume globulare medio: in caso di anemia se **superiore alla norma** e non c'è uno stato carenziale di Vitamina B12 e folati, può essere elemento di sospetto.

Volumi inferiori alla norma depongono per anemie da perdita o da malattia cronica

NB Diagnosi cliniche non specialistiche sono riconducibili a errore diagnostico

NEOPLASIE MIELOIDI - LMA

GOLD STANDARD DIAGNOSI DI MALATTIA

Esame morfologico e immunofenotipo o immunoistochimica su agoaspirato o biopsia MIDOLLARE

(biopsia se il midollo è ipoplasico)

Determinazione % blasti $\geq 20\%$

CD34+ marker di blasti (sono possibili anche blasti CD34- “quiescenti”)

CD68+ marker di cellule monocitoidi

CD7, CD13, CD14, CD15, CD19, CD33, CD117 per differenziare le LMA secondo il sistema FAB

+ Citogenetica o Biologia molecolare per tipo di LMA

In caso di riscontro di **t(8;21), inv(16), t(16;16) e t(15;17)**

la sola citogenetica è **sufficiente per la diagnosi**, anche se i blasti sono **< 20%**

La diagnosi citogenetica o molecolare è sempre di livello superiore a quella su base immuno-fenotipica o istochimica (**MARKER OBBLIGATORI**)

Gli aspetti citochimici (risposta alla mieloperossidasi (MPO) e alla esterasi aspecifica (NSE) e morfologici (presenza di Corpi di Auer) hanno ora bassa rilevanza nelle LMA

Citochimica, immunofenotipo e immunoistochimica e LMA secondo Sistema FAB

LMA				
Varietà FAB	Morfologia midollare	Citochimica	Antigeni cellulari	Frequenza (%)
M1	mieloblasti >90%	<ul style="list-style-type: none"> ❖ mieloperossidasi positiva ❖ Sudan B positivo 	CD13; CD31; CD33; CD34; HLA-DR	15-20
M2	mieloblasti <90%	<ul style="list-style-type: none"> ❖ mieloperossidasi positiva ❖ Sudan B positivo ❖ esterasi positive NaF resistenti 	CD13; CD15; CD31; CD33; HLA-DR	25-35
M3	blasti ipergranulati con corpi di Auer	<ul style="list-style-type: none"> ❖ mieloperossidasi positiva ❖ Sudan B positivo 	CD13; CD31; CD33	3-8
M3v	blasti con fini granuli bi- o plurilobati	<ul style="list-style-type: none"> ❖ mieloperossidasi positiva ❖ Sudan B positivo 	CD13; CD31; CD33, CD2	1
M4	mieloblasti <80% monoblasti >20%	<ul style="list-style-type: none"> ❖ mieloperossidasi positiva ❖ Sudan B positivo ❖ esterasi positive NaF resistenti e inibite 	CD11c; CD13; CD14; CD15; CD31; CD33; HLA-DR	20-25
M5a	monoblasti >80%	esterasi positive NaF inibite	CD11b; CD11c; CD13; CD14, CD15; CD31; CD33; CD68; HLA-DR	5-10
M5b	<ul style="list-style-type: none"> ❖ monoblasti ❖ promonoblasti ❖ monoditi 	esterasi positive NaF inibite	CD11b; CD11c; CD13; CD14, CD15; CD31; CD33; CD68; HLA-DR	2-6
M6	<ul style="list-style-type: none"> ❖ eritroblasti >50% ❖ mieloblasti >30% 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ PAS positività ❖ mieloperossidasi positiva ❖ Sudan B positivo 	glicoforina-A	3-5
M7	<ul style="list-style-type: none"> ❖ blasti di tipo linfoide >30% ❖ mielofibrosi 	perossidasi piastrinica positiva	CD41; CD42; CD61; glicoproteine IIb/IIIa	1-3

PROBLEMI DI REGISTRAZIONE 1 – SIGNIFICATO DEI BLASTI CIRCOLANTI

La presenza di forme immature e blasti in circolo può essere dovuto

- ad una **vera leucemia all'esordio**
- all' **evoluzione leucemica di una MDS o di una MPD** (da identificare)
- ad un epifenomeno interno al **quadro clinico di una MDS o di una MPD nota.**

1) **UN VALORE ≥ 20 % di blasti in striscio periferico o mielogramma è DIAGNOSTICO DI UNA LMA.**

2) **La presenza di precursori immaturi in circolo e nel mielogramma è frequente nella LMC, nella AREB e nelle LMMC ma sempre sotto il 20%
Una CRISI BLASTICA con blasti ≥ 20 % è evoluzione in LMA**

3) **La presenza di precursori immaturi in circolo in corso di altre MDP (TE,PV, MF) o altre MDS (AR, Citopenia refrattaria e MDS diverse) deve far sospettare un'evoluzione leucemica**

Il registratore non fa la diagnosi, o la cambia, ma si deve riferire all'esatta valutazione clinica, annotando i principali parametri clinici

Se il dato è discorde dalla diagnosi, ci si deve confrontare con specialista

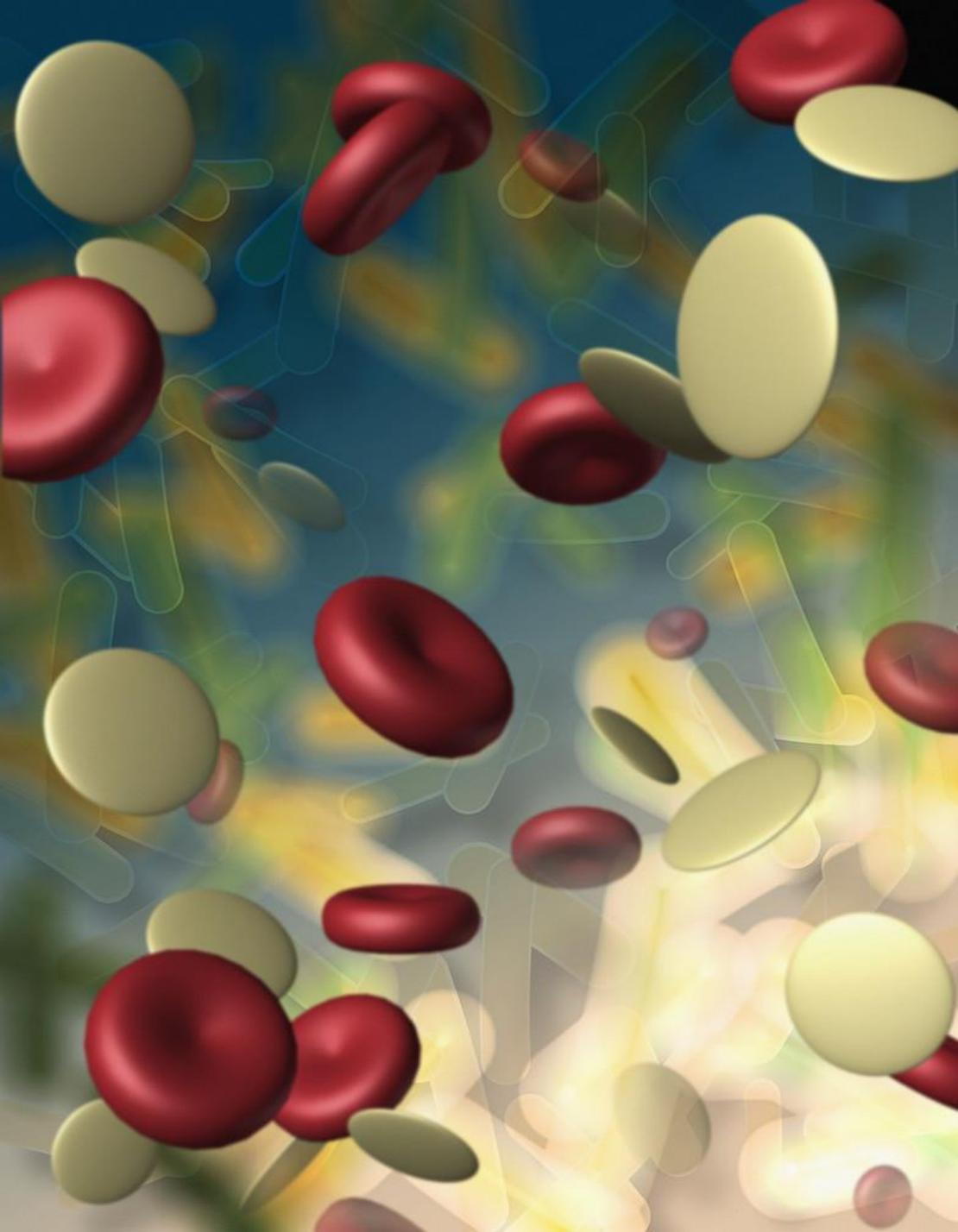
SIGNIFICATO DEL GENE WT1 IN DIAGNOSI MOLECOLARE EMATOLOGICA

Marker prognostico

Il **gene WT1** (Tumore di Wilms) è iperespresso nella LMA, nella LLA, nella LMC, nelle sindromi mielodisplastiche, nei disordini mieloproliferativi Ph negativi, in alcuni linfomi non-Hodgkin

- **nella LMA e nella LLA è altamente correlato con la progressione della malattia**
- **nelle MDS l'espressione aumenta con la progressione della malattia (indicatore precoce di evoluzione in LMA)**
- **usato in pazienti con leucemia acuta per monitorare la malattia residua dopo trattamento chemioterapico.**

Anomalie del WT-1 sono presenti nel 10% delle LMA senza anomalie citogenetiche, e sono associate a peggior prognosi



Grazie
per
l'ascolto